

**NUCLEOTIDE ANALOG, PRODUCTION THEREOF AND ANTIVIRAL AGENT**

**Publication number:** JP63010787 (A)  
**Publication date:** 1988-01-18  
**Inventor(s):** YAMAMOTO NAOKI; TANIYAMA YOSHIHISA; HAMANA TAKUMI; MARUMOTO RYUJI +  
**Applicant(s):** TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD +  
**Classification:**  
- **international:** A61K31/52; A61K31/522; A61P31/12; A61P43/00; C07D471/04; C07D473/06; C07D473/18; C07D473/30; C07D473/34; C07H19/16; C12N9/99; A61K31/519; A61P31/00; A61P43/00; C07D471/00; C07D473/00; C07H19/00; C12N9/99; (IPC1-7): A61K31/52; C07D473/18; C07D473/30; C07D473/34; C12N9/99  
- **European:**  
**Application number:** JP19870025074 19870205  
**Priority number(s):** JP19860049395 19860306

**Also published as:**  
 DD255351 (A5)  
 SU1561826 (A3)  
 CS264290 (B2)

**Abstract of JP 63010787 (A)**  
NEW MATERIAL:A compound expressed by formula I (R is OH which may be protected; Y is a purine base which may be protected) or a salt thereof. EXAMPLE:N<6>-Benzoyl-6'-O-(4, 4'-dimethoxytrityl)-3'-O-((imidazo-1-yl )-thiocarbonyl) -2'-deoxyaristeromycin. USE:Antiviral agent.  
PREPARATION:OH group in the 2'- or 3'-position of a compound expressed by formula II (either one of R1 and R2 is OH and the other is H) is thiocarbonylated, preferably at room temperature. Then, the compound is reduced in the presence of an equivalent or excessive amount of alpha,alpha'- azobisisobutyronitrile at 0-100 deg.C for 30min-2hr, using tributyltin hydride to give a compound dideoxylated in the 2'- and 3'-positions.



Data supplied from the *espacenet* database — Worldwide

## ⑫ 公開特許公報 (A) 昭63-10787

⑬ Int.Cl. <sup>1</sup>	識別記号	庁内整理番号	⑭ 公開 昭和63年(1988)1月18日
C 07 D 473/18		7430-4C	
A 61 K 31/52	ADY	7252-4C	
C 07 D 473/30	AED	7252-4C	
473/34		7430-4C	
C 12 N 9/99		7430-4C	
		7421-4B	審査請求 未請求 発明の数 3 (全11頁)

⑮ 発明の名称 ヌクレオシド類縁体、その製造法および抗ウイルス剤

⑯ 特願 昭62-25074

⑰ 出願 昭62(1987)2月5日

優先権主張 ⑲ 昭61(1986)3月6日 ⑳ 日本(JP) ㉑ 特願 昭61-49395

㉒ 発明者 山本直樹 山口県宇部市東小羽山町1-7-12

㉒ 発明者 谷山佳央 大阪府大阪市東淀川区瑞光1丁目6番31号

㉒ 発明者 浜名巧 兵庫県西宮市神垣町5番21号 武田薬品夙川寮内

㉒ 発明者 丸本龍二 兵庫県芦屋市奥池南町53番1号

㉓ 出願人 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市東区道修町2丁目27番地

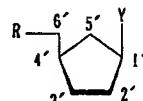
㉔ 代理人 弁理士 岩田弘

## 明細書

## 1. 発明の名称

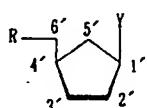
で示される化合物を還元反応に付して2',3'-ジデオキシ化することを特徴とする一般式

ヌクレオシド類縁体、その製造法および抗ウイルス剤



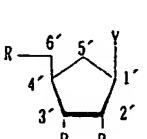
## 2. 特許請求の範囲

## (1) 一般式

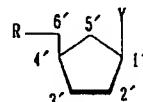


(式中、RおよびYは前記と同義を有する)で示される化合物またはその塩の製造法

## (2) 一般式



(式中、Rは保護されていてもよい水酸基を、Yは保護されていてもよいプリン塩基を表す)で示される化合物またはその塩



(式中、Rは保護されていてもよい水酸基を、Yは保護されていてもよいプリン塩基を表す)で示される化合物またはその塩を含有してなる抗ウイルス剤。

## (3) 一般式

## 3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

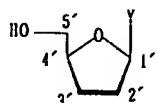
本発明は生物学、医学あるいは遺伝子操作上においてプリンヌクレオシドに代えて使用することができ、また抗ウイルス剤として有用なシクロベ

(式中、Rは保護されていてもよい水酸基を、R<sub>1</sub>またはR<sub>2</sub>はいずれか一方が水酸基で他方は水素を、Yは保護されていてもよいプリン塩基を表す)

シタン母を有するヌクレオシド類緑体を提供するものである。

#### 従来の技術

プリンヌクレオシドのジデオキシアナログの例として、次式



(式中、Yはゲアニン-9-イル、アデニン-9-イルを表す)で示される化合物の誘導体がDNA塩基配列決定法において使用されている [プロシーディングス・ナチュラル・アカデミー・オブ・サイエンス (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.), 74, 4563 (1977)]。しかし、プリンヌクレオシドの2',3'-ジデオキシアナログは極めて酸に敏感で、容易にグリコシル結合の開裂を起こし、合成上多大の困難がある。

最近さらにプリンヌクレオシドあるいはヌクレオチドの2',3'-ジデオキシアナログはウイルス由来の逆転写酵素阻害剤となり得ることが知

られ、RNAウイルスの化学療法剤として注目されている [ケミカル・アンド・エンジニアリング・ニュース (Chem. Eng. News), 1月27日号, 28 (1986)]。

#### 発明が解決しようとする問題点

上記のように、ジデオキシヌクレオシドあるいはそのカルボサイクリックアナログについては、ある程度の研究はなされているものの、まだ未検討の分野も多く、さらに各種アナログを合成し、評価することが重要な課題となっている。本発明は、新規で抗ウイルス剤等として利用し得るカルボサイクリック2',3'-ジデオキシヌクレオシドを提供しようとするものである。

#### 問題を解決するための手段

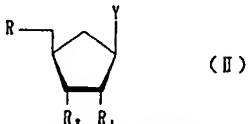
本発明者らは、上記のような状況下で、新規でかつ有用なプリンヌクレオシドアナログを得るために種々検討し、本発明を完成したものである。すなわち本発明は、

#### (1) 一般式(I)



(式中、Rは保護されていてもよい水酸基を、Yは保護されていてもよいプリン塩基を表す)で示される化合物またはその塩、

#### (2) 一般式(II)



(式中、Rは保護されていてもよい水酸基を、R<sub>1</sub>またはR<sub>2</sub>はいずれか一方が水酸基で他方は水素を、Yは保護されていてもよいプリン塩基を表す)で示される化合物を還元反応に付して2',3'-ジデオキシ化することを特徴とする一般式(I)の化合物またはその塩の製造法、および

(3) 一般式(I)の化合物またはその塩を含有してなる抗ウイルス剤である。

一般式(I)および(II)の化合物においてRが水酸基保護基であるときの該保護基としては、通常、

ヌクレオシド化学において水酸基の保護基として用いられるものであれば特に限定されない。本発明では、アルカリ性条件下で比較的安定なもののが好ましく用いられ、たとえば、炭素数3~10のアルキルシリル(例、t-ブチルジメチルシリルなど)、炭素数4~10のアルキルまたはアルコキシサイクリックエーテル(例、テトラヒドロフラニルおよび炭素数4~7のテトラヒドロフラニル誘導体、テトラヒドロピラニルおよび炭素数5~8のテトラヒドロピラニル誘導体(例、メトキシテトラヒドロピラニルなど))、炭素数3~10のアルコキシアルキル(例、エトキシメチル、メトキシエチルなど)、トリチルおよびそのアルコキシ置換体(例、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルなど)等が例示される。保護基がアシル基の場合は、脂肪酸エステル(例、炭素数1~10の鎖状または分枝状)や芳香族カルボン酸エステル(例、炭素数5~30)として保護することができる。

Yで示されるプリン塩基としては、通常、核酸

化学の分野でいうプリン環を骨格とする各種の塩基が挙げられる。たとえば、アデニン、ヒポキサンチン、グアニン、イソグアニン、キサンチン、3-デアザアデニン、7-デアザアデニン、8-アザアデニン、2,6-ジアミノプリンなどが挙げられ、一般式(I)および(II)の化合物においてこれら塩基はプリン環の9位の窒素原子を介して結合する。

次に一般式(I)および(II)の化合物においてプリン塩基の保護基、すなわち2位あるいは6位のアミノ基保護基としては、通常ヌクレオシド化学の領域で用いられるものすべてが適用できる。たとえば、アデニンの保護基としてはベンゾイルなどの芳香族カルボン酸残基(炭素数5~30)がグアニンの保護基としては脂肪族カルボン酸残基(炭素数2~10の鎖状または分枝状)が貢用される。

一般式(II)の化合物から一般式(I)の化合物を得るには、一般式(II)の化合物の2'または3'位水酸基を0~80°C、望ましくは室温下でチオカルボニル化したのち $\alpha,\alpha'$ -アゾビスイソブチロニトリルの当量ないし過剰の存在下にトリプ

2624(1976)]あるいは「ヌクレイック・アシズ・シンポジウム・シリーズ(Nucleic Acids Symposium Series, No 16, 141 (1985))」に記載の方法によって得られる。たとえば、特開昭50-62992号、あるいはChemical Pharmaceutical Bulletin 24, 2624(1976)に記載の方法により、原料化合物としてアリステロマイシンを用いることにより一般式(II)においてYがアデニン-9-イルで、R<sub>1</sub>またはR<sub>2</sub>の一方が水酸基で他方が水素であり、R<sub>3</sub>が水酸基である化合物が得られ、また一般式(II)においてYがN<sup>6</sup>-ベンゾイル-アデニン-9-イル、R<sub>1</sub>が4,4'-ジメトキシトリチルで保護された水酸基であり、R<sub>2</sub>が水素、R<sub>3</sub>が水酸基である化合物は上記の「ヌクレイック・アシズ・シンポジウム・シリーズ」に記載の方法で得られる。さらに、一般式(II)において、Yが保護されていてもよいグアニン-9-イル、またはヒポキサンチン-9-イル、R<sub>1</sub>が保護されていてもよい水酸基、2'位が水素、3'位が水酸基である化合物

チル錫ヒドリドを用いて0~100°Cで、30分~2時間還元し、一般式(I)で示される2',3'-ジオキシ体を得る。チオカルボニル化はチオカルボニルツイミグゾールを用いるチオカルボニルイミダゾリル化、フェニールクロロチオカルボネートを用いるフェノキシチオカルボニル化あるいは二硫化炭素とヨウ化メチルの反応物を用いるS-メチルジチオカルボニル化などにより好都合になし得る。この還元後、酸性条件下(例、酢酸、1N塩酸で室温下処理)で容易に4,4'-ジメトキシトリチル基は除去され、さらにアルカリ性条件下(例、濃アンモニア水、1N-水酸化ナトリウム、1M-ナトリウムエチラートなど)でプリン塩基の保護基を脱離し得る。

一般式(II)の化合物は、たとえば次の方法によって製造される。一般式(II)において、Yが保護されていてもよいアデニン-9-イルである化合物は、特開昭50-62992号、「ケミカル・アンド・ファーマシュティカル・プレティン(Chemical & Pharmaceutical Bulletin)24,

は、特願昭60-236858号に記載の方法(前述の参考例1~8参照)によって得られる。

一方、Yが保護されていてもよい2,6-ジアミノプリン-9-イル、R<sub>1</sub>が水素、R<sub>2</sub>が水酸基である化合物は次のようにして合成される。Yがアデニン-9-イルである対応化合物の水酸基を保護したのち、過酸化水素やメタクロル過安息香酸によってN<sup>1</sup>-オキシドとし、6位のアミノ基を亜硝酸によって脱アミノしたのち、特公昭42-4347号記載の方法によりオキシ塩化リンと加熱して2,6-ジクロルプリン-9-イル体とする。次いで、6位のクロルをアミノ基とし、更に亜硝酸ナトリウム/酢酸で脱アミノ化すると2-クロル-6-ヒドロキシプリン-9-イル体となる。この化合物の2位をアミノ化したのち、6位をクロル化し、次いでアミノ化することによって目的物が得られる。

本発明の一般式(I)の化合物の塩としては、プリン塩基のアミノ基と鉛酸(例、塩酸、硫酸、硝酸)、有機カルボン酸(例、酢酸、乳酸、酒石酸、マレイン

酸、コハク酸)あるいは有機スルホン酸(例、メタシスルホン酸、エタシスルホン酸、ベンゼンスルホン酸)で形成される塩が挙げられる。

本発明の一般式(I)の化合物は各種のDNAウイルスあるいはRNAウイルスに対し抗ウイルス作用を示す。DNAウイルスの例としてはヘルペスウイルス〔(例、ヘルペスシンプレツクスウイルスI型あるいはII型、サイトメガロウイルス(Cytomegalovirus)、エプシュタイン-バーリウイルス(Epstein-Barr virus)〕、アデノウイルス(例、typeIII)、B型肝炎ウイルスあるいはポツクスウイルスなどがあげられる。またRNAウイルスとしては、ヒト免疫不全症ウイルス(ヒトT細胞リンパ腫向性ウイルス、HTLV-III)、水痘性口内炎ウイルス、ネコ白血病ウイルスあるいはウマ感染性貧血性ウイルス、などが挙げられる。

とりわけ、本発明の化合物は逆転写酵素の阻害剤としてRNAウイルス、特にHTLV-III(AIDS)ウイルスに対する生育抑制効果を顯著

与経路は摂取者の病状および年令、感染の性質などにより適宜に選択される。

本化合物は単独で投与することもできるが、好ましくは医薬製剤として投与する。本発明の医薬製剤は一般式(I)の化合物を少なくとも一種と生理的に許容されうる担体の一種または二種以上および必要によりその他の治療剤を含有せしめてもよい。

本製剤は単位投与形で提供すると好ましく、調剤技術で良く知られているいづれかの方法により調製できる。

本発明の化合物を含有する経口投与の製剤としてはカプセル、または錠剤のような分離単位:粉末または顆粒:水性または非水性液体中の溶液または懸濁液;あるいは水中油型液体エマルジョンまたは油中水型液体エマルジョンなどの剤型があげられる。

錠剤は必要により一種または二種以上の補助成分とともに圧縮または成型することにより調製できる。圧縮錠剤は必要により結合剤(例、ポビド

に示す。

本発明の化合物は上記のような各種ウイルスの感染症の治療に用いることができる。たとえば、免疫機能の低下した患者に発症した单纯疱疹、水痘、帯状疱疹、角膜炎、結膜炎ならびに急性肝炎や、種々の日和見感染症と悪性腫瘍の好発症、中枢神経系症状などがあげられる。

従って、本化合物は、抗ウイルス剤として、動物とりわけ哺乳動物(たとえば、ウサギ、ラット、マウスなどの実験動物;イヌ、ネコなどの愛玩動物;ヒト;牛、馬、羊、豚などの家畜)のウイルス病の治療に使用することができる。

一般に、適当な投与量は一日当たり摂取者の体重Kg当り30~500mgの範囲、好ましくは100~300mg/体重Kg/日である。通常は、一日の適当な間隔で2回、3回または4回以上の分割投与量で投与する。

投与は経口、直腸、鼻、局所(例、舌下および口腔内)、腔および非経腸(例、皮下、筋肉内、静脈内および皮内)などの経路により投与できる。投

与、ゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース)、潤滑剤、不活性希釈剤、保存剤、崩壊剤、表面活性剤または分散剤と混合して、粉末または顆粒状にした後、適当な機械で圧縮することにより調製できる。

非経口投与の製剤としては水性および非水性の等張無菌注射溶液があげられる。この溶液は酸化防止剤、緩衝剤、防腐剤および等張化剤を含有させてもよい。さらに、水性および非水性無菌懸濁液でもよく、この場合は懸濁化剤および増粘剤を含有させててもよい。これらの製剤は単位投与量または多回投与量を含む密封容器、たとえばアンプルおよびバイアルとして提供できる。さらに使用直前に、加温液体担体、たとえば注射用水を加える必要があるだけの凍結乾燥(真空凍結乾燥)品としても提供できる。即時使用注射溶液および懸濁液は前記した種類の加温粉末、顆粒および錠剤から製造できる。

経口内に局所投与の製剤は、本発明の化合物を風味を付与した基材、たとえばショ糖およびアラ

ビヤゴムまたはトラガカントゴム中に含有せしめるトローチ剂;ゼラチンおよびグリセリン、またはショ糖およびアラビヤゴムのような不活性基材中に含有せしめる紙剤;および適当な液体担体中に含有せしめる含嗽剤として利用し得る。

直腸投与用製剤は、たとえばカカオ脂のような適当な基材とともに坐薬として利用し得る。

腔投与用製剤は公知方法により担体を含有せしめてペツサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォームまたはスプレーとして利用し得る。

本発明の一般式(I)の化合物のうち、とりわけ 2',3'-ジデオキシアリステロマイシン(実施例3)および9-[(1S,4R)-4-ヒドロキシメチルシクロベンタン-1-イル]グアニン(実施例4)はAIDSウイルスに対する生育抑制作用が強く、有用性の高い化合物である。

#### 実施例

以下に、参考例、実施例および試験例を示し本発明をさらに具体的に説明する。

9-[(1R,2S,3R,4R)-4-メチル-2-ベンゾイルチオカルボニルオキシ-3,6-(テトライソプロビルジシロキサン)ジオキシシクロベンタン-1-イル]ヒポキサンチンの合成

参考例1で得た化合物(11.2g, 22.3mmol)を300mlの無水アセトニトリルに溶かし、ジメチルアミノビリジン(15.8g, 53.5mmol)とフェノキシチオカルボニルクロリド(5g, 29mmol)を加え、室温下7hrかくはんした。減圧下に浴媒を除いて得られる残留物を250mlのクロロホルムに溶かし、0.5Mのリン酸二水素カリウム溶液(250ml×2)で洗浄、続いて水洗(200ml)。乾燥後(無水硫酸ナトリウム)減圧濃縮して、黄色シロップ状物質を得た。これをシリカゲルクロマトグラフィー(90g, 溶媒:  $\text{CHCl}_3$  および  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 60/1$ )で精製し淡黄色ガラス状の化合物(13.0g)を得た。

NMR(60MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1.0-1.23(28H, m), 2.13-2.43(3H, m, H<sub>4'</sub>, H<sub>5'</sub>), 3.93-4.10(2H, m, H<sub>6'</sub>), 4.80-5.20(2H, m, H<sub>1'</sub>, H<sub>2'</sub>), 6.00-6.20(1H, m, H<sub>2'</sub>), 7.03-7.50(5H, m), 7.87(1H, s), 8.13

#### 参考例1

9-[(1R,2S,3R,4R)-4-メチル-2-ヒドロキシ-3,6-(テトライソプロビルジシロキサン)ジオキシシクロベンタン-1-イル]ヒポキサンチンの合成

イノシンのカルボサイクリックアナログ(10g, 37.5mmol)を200mlの無水DMFに溶かし、1,3-ジクロロ-1,1,3,3-テトライソプロビルジシロキサン(13ml, 41mmol)とイミダゾール(11.3g, 165mmol)とを加えた後、室温下2.5hrかくはんした。反応液を水2lに滴下し生じた沈殿をろ取し、水洗した後、さらに素早くジエチルエーテルで洗浄し、乾燥後、白色粉末状の化合物(17.2g)を得た。さらに一部をジクロロメタンから再結晶し結晶を得た。mp 135-138°C。

なお、上記において用いたイノシンのカルボサイクリックアナログは「(Chemical & Pharmaceutical Bulletin) 24, 2624 (1976)」に記載の公知化合物である。

#### 参考例2

(III,s)

#### 参考例3

9-[(1R,3S,4R)-4-メチル-3,6-(テトライソプロビルジシロキサン)ジオキシシクロベンタン-1-イル]ヒポキサンチンの合成

参考例2で得た化合物(13.0g, 20mmol)に30mlの無水トルエンを加え、減圧濃縮した。次いで300mlの無水トルエンに溶かし、チッ素ガスを20分間バッブリングした。トリプチル堿ヒドリド(11ml, 40mmol)を加えた後、80°Cに加温しながら、途中、4回に分けて15分おきに  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -アゾビスイソブチロニトリルの結晶(820mg)を加えた。3hr加温かくはんした後、減圧下に浴媒を除き得られた油状物をシリカゲルクロマトグラフィー(80g, 溶媒:  $\text{CHCl}_3$  および  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 60/1 \sim 30/1$ )で精製し無色ガラス状の化合物(10.4g)を得た。さらに一部をエクノールから再結晶し、無色針状晶を得た。mp 200-202°C。

NMR(60MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 0.93-1.20(28H,

s), 1.97-2.53(5H, m, H<sub>2</sub>', H<sub>4</sub>', H<sub>5</sub>'), 3.80-4.07  
(2H, m, H<sub>6</sub>'), 4.43-5.27(2H, m, H<sub>1</sub>', H<sub>3</sub>'), 7.87(1H, s), 8.20(1H, s)

## 参考例4

9-[(1R, 3S, 4R)-4-(モノメトキシトリチロキシ)メチル-3-ヒドロキシル-シクロペニタン-1-イル]-[1-メトキシメチルヒポキサンチン]の合成

参考例3で得た化合物(9.8g, 19.8mmol)を240mlの無水ジオキサンに溶かし氷冷かくはん下、素早く水素化ナトリウム(880mg, 21.8mmol)を加え、室温にもどし1.5hrかくはんした。続いて、氷冷下、素早くメトキシメチルクロリド(2ml, 21.8mmol)を加え、室温下3hrかくはんを続けた。

減圧下に溶媒を除いたのち得られた油状物を200mlのクロロホルムに溶かし0.1Mのトリエチルピカルボナート(TEAB)緩衝液(pH 7.5, 100ml×2), さらに水洗(200ml), 乾燥(無水硫酸ナトリウム)後減圧濃縮しシロップ状物質を得た。これにC<sub>18</sub>シリカゲルクロマトグラフィー(Φ5.8×

メトキシトリチル化されなかった化合物を回収した。この化合物を濃縮後、HP-20樹脂上(190ml, 溶媒:水および30%エタノール水)で精製し、濃縮後、ビリジン共沸を行ないモノメトキシトリチル化を上記と同様の操作で行なった。この様にして得られた本参考例の目的化合物の精製は、両者をあわせてシリカゲルクロマトグラフィー(80g, 溶媒:CHCl<sub>3</sub>/MeOH=100/1, 60/1, 50/1)で行ない、無色ガラス状の化合物(6.1g)を得た。さらに一部はジクロロメタンに溶かしn-ヘキサン中に滴下することにより白色粉末状とした。

NMR(60MHz, CDCl<sub>3</sub>)δ ppm: 1.87-2.70(5H, m, H<sub>1</sub>', H<sub>4</sub>', H<sub>5</sub>'), 3.20-3.40(2H, m, H<sub>6</sub>'), 3.43(3H, s, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>), 3.80(3H, s), 4.30-4.57(1H, m, H<sub>2</sub>'), 4.87-5.10(1H, m, H<sub>3</sub>'), 5.47(2H, s, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-N), 6.73-6.97(2H, m), 7.17-7.53(12H, m), 7.73(1H, s), 7.98(1H, s)

## 参考例5

1-[(1R, 3S, 4R)-4-(モノメトキシトリチロキシ)メチル-3-ヒドロキシル-シク

7.0cm.溶媒:アセトン水, 55%~80%)で精製し無色ガラス状の化合物(8.5g)を得た。

本化合物(8.0g)を32mlのテトラヒドロフラン(THF)に溶かしテトラブチルアンモニウムフルオリドの3水塩(TBAF·3H<sub>2</sub>O)(10g)を加え、室温で0.5hrかくはんした。溶媒を減圧下に除いて得られる油状物を100mlの水に溶かし、ジエチエーテル(100ml×2)で洗浄後、Dowex-50(ビリジン型, 60ml)樹脂上で、テトラブチルアンモニウム塩を除いた。この通過液と樹脂の水洗液(240ml)とをあわせ濃縮したのち、残留物をビリジン共沸3回行ない脱水した。これを100mlのビリジンに溶かしモノメトキシトリチルクロリド(MMTtCl)(5.4g)を加え、37℃で4hrかくはんした。溶媒を減圧下に除いて得られる油状物を0.1M-TEAB緩衝液(50ml)とCHCl<sub>3</sub>(100ml)で分配し、有機層をさらに水洗(100ml)し、乾燥後(無水硫酸ナトリウム)減圧濃縮し、トルエンで共沸を行ない無色シロップ状物質を得た。一方、0.1M-TEAB緩衝液と水洗液をあわせて濃縮し、モノ

## ロベンタン-1-イル]-[4-カルバモイル-5-アミノイミダゾール]の合成

参考例4で得た化合物(6.1g, 10.7mmol)を490mlのエタノールに溶かし加熱還流しながら、あらかじめ加温した130mlの5M水酸化ナトリウム水溶液を素早く加え、さらに40分間還流を続けた。減圧下に溶媒を除いたのち得られた油状物を200mlのクロロホルムに溶かし水洗(100ml×2), 続いて0.1M-TEAB緩衝液で洗い(100ml×2), さらに飽和食塩水(100ml)で洗浄し、乾燥(無水硫酸ナトリウム)後減圧濃縮しシロップ状物質を得た。これをシリカゲルクロマトグラフィー(90g, 溶媒:CHCl<sub>3</sub>/MeOH=100/1~20/1)で精製し無色ガラス状の化合物(3.2g)を得た。さらに一部をクロロホルムに溶かしn-ベンタン中にかくはん下滴下することにより白色粉末状の化合物を得た。

元素分析値(%) C: 69.33, H: 6.09, N: 10.51, O: 1.61 分子量 521.616

計算値: C: 69.08, H: 6.38, N: 10.74

実測値: C: 69.14, H: 6.09, N: 10.54

NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1.36-2.52(5H, m), 3.00-3.40(3H, m, H<sub>2</sub>', OH), 3.77(3H, s), 4.12-4.60(2H, m, H<sub>1</sub>', H<sub>2</sub>'), 4.80-5.28(2H, br. NH<sub>2</sub>), 5.64-6.44(2H, br, NH<sub>2</sub>), 6.76-6.94(3H, m), 7.14-7.48(12H, m)

## 参考例 6

1-[ (1R, 3S, 4R)-4-(モノメトキシトリルオキシ)メチル-3-ヒドロキシリ-シクロペンタン-1-イル]-[4-カルバモイル-5-(N-ベンズイル-S-メチルイソチオ-カルバモイル)アミノイミダゾール]の合成

参考例 5 で得られた化合物(0.88g, 1.7mmol)を25mlの無水アセトンに溶かし加熱還流しながらベンズイルイソチオシアネット(260μl, 1.9mmol)のアセトン溶液(8ml)を10分間で滴下し、続いて50分間還流した。減圧下に溶媒を除き得られる淡黄色ガラス状物質をシリカゲルクロマトグラフィー(15g, 溶媒: CHCl<sub>3</sub>/MeOH=50/1~30/1)で精製し、淡黄色ガラス状の化合物(0.87g)を得た。この化合物(0.84g, 1.2mmol)に少量のアセトンを加えシ

6.94(3H, m), 7.12-7.52(15H, m), 7.80-7.96(2H, m), 11.35(1H, bs, NH)

## 参考例 7

9-[ (1R, 3S, 4R)-4-モノメトキシトリルオキシメチル-3-ヒドロキシリ-シクロペンタン-1-イル]グアニンの合成

実施例 1 で得られた化合物(360mg, 0.53mmol)を加熱した18mlの6N水酸化ナトリウムに加え、1hr加熱還流した。反応液からCHCl<sub>3</sub>で生成物を抽出し、0.1M-T E A B 緩衝液(30ml), 次いで飽和食塩水(30ml)で洗浄後、乾燥(無水硫酸ナトリウム)し、シリカゲルクロマトグラフィー(8g, 溶媒: CHCl<sub>3</sub>/MeOH=40/1~8/1)で精製した。得られたガラス状物質に少量のアセトンを加え、ペンタン中に滴下して生成する沈殿を遠心、乾燥して目的とする化合物の粉末210mgを得た。

元素分析値(%) C, H, N, O, + 1.0H<sub>2</sub>O, 分子量555.633として

計算値: C: 67.01, H: 5.99, N: 12.60  
実測値: C: 67.01, H: 5.89, N: 12.42

ロップ状としたのち、12.5mlの0.2N-NaOHを加え超音波処理により均一な溶液とした。かくはん下ジメチル硫酸(130μl, 1.4mmol)を加え室温で1hrはげしくかくはんを続けた。反応液とCHCl<sub>3</sub>, (15ml×2)で分配し有機層を0.1M-T E A B 緩衝液(15ml×3), 続いて飽和食塩水(20ml)で洗浄し、乾燥後(無水硫酸ナトリウム)減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー(15g, 溶媒: CHCl<sub>3</sub>/MeOH=100/1~60/1)で精製した。得られたガラス状物質に少量のジクロロメタンを加え、ヘキサン中に滴下して生成する沈殿を遠心、乾燥し本実施例で目的とする化合物の粉末400mgを得た。

元素分析値(%) C, H, N, O, S, 分子量689.

835として

計算値: C: 67.90, H: 5.70, N: 10.15  
実測値: C: 67.45, H: 5.45, N: 9.89  
NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1.34-2.60(5H, m), 2.52(3H, s, SCH<sub>3</sub>), 3.04-3.44(2H, m, H<sub>2</sub>'), 3.79(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.08-4.44(1H, m, H<sub>1</sub>'), 4.60-5.00(1H, m, H<sub>1</sub>'), 5.64(1H, bs, NH<sub>2</sub>), 6.72-

NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm: 1.50-2.60(5H, m), 3.01(2H, bs), 3.98-4.20(1H, m), 4.70-4.96(2H, m), 6.37(2H, bs, NH<sub>2</sub>), 6.82-7.46(14H, m), 7.68(1H, s, H<sub>2</sub>), 10.60(1H, bs, NH)

## 参考例 8

9-[ (1R, 3S, 4R)-4-ヒドロキシメチル-3-ヒドロキシリ-シクロペンタン-1-イル]グアニンの合成

参考例 7 で得られた化合物(180mg, 0.33mmol)を10mlの80%酢酸に溶かし、40℃で1.5hrかくはんした。減圧下溶媒を除き、さらに2度、水と共に沸をおこなった。10mlの水を加え、エーテル(10ml×2)で洗浄後、減圧下、水を除き、目的とする化合物の無色結晶41mgを得た。mp 246-248℃

$\lambda_{\text{max}}$  (nm): (H<sub>2</sub>O): 255, 278(sh)

(H<sup>+</sup>): 257, 282

(OH<sup>-</sup>): 256(sh), 273

元素分析値(%) C, H, N, O, + 0.5H<sub>2</sub>O, 0.1C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 分子量278.886として  
計算値: C: 48.24, H: 6.00, N: 25.11

実測値: C: 48.51, H: 6.41, N: 25.40

## 実施例 1

N°-ベンゾイル-6'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-3'-O-[イミダゾール-1-イル]-チオカルボニル]-2'-デオキシアリステロマイシン

N°-ベンゾイル-6'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-デオキシアリステロマイシン(2.5 g)を10 mlの乾燥ジクロルメタンに溶かし、チオカルボニルジイミダゾール(8.0 g)を加え、室温下20時間攪拌した。

反応液を濃縮乾固後、シリカゲルクロマトグラフィー(Kieselgel 60, メルク社, 50 g, 溶媒: 酢酸エチル)で精製し、淡黄色ガラス状の化合物を得た。(収量 2.2 g)。

NMR(90MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 3.80(6H, s, 2CH<sub>3</sub>O-), 8.35(1H, s, H<sub>o</sub>), 8.76(1H, s, H<sub>o</sub>)。

## 実施例 2

N°-ベンゾイル-6'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2',3'-ジデオキシアリス

乾固したのち、80%酢酸(100 ml)を加え60℃, 2時間加熱し、減圧下に濃縮乾固した。残留物を水(100 ml)に溶かし、エーテル(50 ml)で2回洗浄した。水層を濃縮乾固し、残留物をエーテル中で粉末とし2',3'-ジデオキシアリステロマイシン(0.23 g)を得た。

UVλ<sub>max</sub><sup>H<sub>2</sub>O</sup>(nm): 260

元素分析値(%): C, H, N, O · H<sub>2</sub>O

(分子量 251.29として)

計算値: C: 52.57, H: 6.82, N: 27.87

実測値: C: 52.83, H: 6.95, N: 27.54

かくして得られた2',3'-ジデオキシアリステロマイシンに当量の1N塩酸を加え、溶解せしめたのち、濃縮し、エタノールを加えて数回濃縮乾固を繰返し、熱エタノールで再結晶すると塩酸塩の結晶が得られた。mp 173-175℃

元素分析値(%): C, H, N, O · HCl

1/2H<sub>2</sub>O

(分子量 278.73として)

## テロマイシン

実施例 1 得た3'-チオカルボニル体(2.0 g)を20 mlの乾燥ジオキサンに溶かし、加热還流しながらトリプチル錫ヒドリド(4.5 g)の乾燥ジオキサン溶液(10 ml)を滴下した。途中α, α'-アゾビスイソブチロニトリルの結晶(500 mg)を少しづつ加えた。20分で滴下を終え、さらに2時間還流させた。減圧下に溶媒を除き、得られた油状物質をシリカゲルクロマトグラフィー(40 g, 溶媒: CHCl<sub>3</sub>)で精製し無色粉末状物質(1.1 g)を得た。

NMR(90MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 3.80(6H, s, 2CH<sub>3</sub>O-), 4.80-5.20(1H, m, H<sub>o</sub>), 3.15(2H, d, 2H, H<sub>o</sub>), 8.76(1H, s, H<sub>o</sub>), 9.19(1H, s, -NH-C=O-).

## 実施例 3

2',3'-ジデオキシアリステロマイシン

実施例 2 得た化合物(1.0 g)を少量のビリジンに溶解し、濃アンモニア水50 mlを加え、耐圧管中で60℃, 5時間加熱した。反応液を濃縮

計算値: C: 47.40, H: 6.15, N: 25.12,

C1: 12.72

実測値: C: 47.98, H: 6.06, N: 24.87,

C1: 12.71

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -6.79 (c = 0.61, H<sub>2</sub>O)

## 実施例 4

参考例 8 得られた化合物(2.5 g)を実施例 1, 2, 3 と同様にして処理し、9-[(1S, 4R)-4-ヒドロキシメチルシクロヘキサン-1-イル]グアニンの結晶状粉末(0.3 g)を得た。

mp. 269℃

UVλ<sub>max</sub><sup>pH 2</sup>(nm): 255.280(肩):

UVλ<sub>max</sub><sup>H<sub>2</sub>O</sup>(nm): 253.270(肩):

UVλ<sub>max</sub><sup>pH 10</sup>(nm): 258(肩), 270

元素分析値(%): C, H, O, N

(分子量 249.21として)

計算値: C: 53.00, H: 6.07, N: 28.10

実測値 : C : 52.81, H : 5.86, N : 27.83

$$[\alpha]_D^{25} = -4.74 \text{ (c = 0.57, DMF)}$$

実施例1の原料化合物においてN<sup>o</sup>-ベンゾイル-6'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-3'-O-[(イミダゾール-1-イル)-チオカルボニル]-2'-デオキシアリステロマイシンに代えてヒポキサン体を用いて、実施例1～3の方法に準じて9-[(1S,4R)-4-ヒドロキシメチルシクロヘキサン-1-イル]ヒポキサンチンが得られる。

元素分析値(%) C : 44.44, H : 5.86, N : 27.83

(分子量 234.25として)

計算値 : C : 56.40, H : 6.02, N : 23.92

実測値 : C : 56.81, H : 6.33, N : 24.25

#### 実施例5

9-[(1S,4R)-4-ヒドロキシメチルシクロヘキサン-1-イル]グアニン

(1) 9-[(1R,3S,4R)-4-ヒドロキシメチル-3-ヒドロキシル-シクロヘキサン-1-

-(8.0 g, 溶媒: CHCl<sub>3</sub>/MeOH = 4.0/1 ~ 6/1)で精製し、粉末状の目的物 4.3 gを得た。この一部分をクロロホルム-ジエチルエーテル混液で再結晶すると結晶が得られた。

mp 244-246°C

元素分析値(%) C : 44.44, H : 5.86, N : 27.83

(分子量 531.60として)

計算値 : C : 70.04, H : 5.88, N : 10.54

実測値 : C : 70.39, H : 5.77, N : 10.38

(3) 9-[(1S,4R)-4-モノメトキシトリチルオキシメチル-シクロヘキサン-1-イル]ヒポキサンチンの合成

上記(2)で得られた化合物(4.32 g, 8.27 mmol)をトルエン(7.0 mL)に溶かし、チオカルボニルジイミダゾール(2.2 g, 12.4 mmol)を加えて室温下5時間搅拌した。反応液を濃縮乾固し、残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(8.0 g, 溶媒: CHCl<sub>3</sub>/MeOH = 1.0/1 ~ 6.0/1)で精製し淡黄色粉末 5.2 gを得た。これをトルエン(9.0 mL)に溶かし、トリプチル錫ヒドリド(3.4

#### イル]ヒポキサンチンの合成

参考例3で得た化合物(1.24 g, 2.0 mmol)をトルエン(2.00 mL)に溶かし、フツ化テトラブチルアンモニウム(10.46 g, 4.0 mmol)を加え、75°Cで2時間加热した。反応液を濃縮乾固し、残留物を水に溶かし、活性炭(3.0 g)を用いて脱塩処理し、粗生成物をメタノールとエチルエーテルとの混液で再結晶し、無色結晶(4.6 g)を得た。mp. 170°C

元素分析値(%) C : 44.44, H : 5.86, N : 27.83

(分子量 268.27として)

計算値 : C : 49.25, H : 6.01, N : 20.88

実測値 : C : 49.08, H : 5.86, N : 20.81

(2) 9-[(1R,3S,4R)-4-モノメトキシトリチルオキシメチル-3-ヒドロキシル-シクロヘキサン-1-イル]ヒポキサンチンの合成

上記(1)で得られた結晶(2.3 g, 9.2 mmol)をピリジン(1.00 mL)に溶かし、塩化モノメトキシトリチル(3.1 g, 1.0 mmol)を加え室温にて5時間搅拌した。反応液をシリカゲルクロマトグラフィ

(d, 12.4 mmol)とα, α'-アブисイソブチロニトリル(27.0 mg, 1.6 mmol)を用いて参考例3と同様に反応させ、シリカゲルクロマトグラフィー(1.00 g, 溶媒: 酢酸エチル/メタノール = 9/1)で精製し、目的物 1.63 gを得た。さらに一部をメタノール-エチルエーテル混液で再結晶し、結晶を得た。mp 175-177°C。

元素分析値(%) C : 44.44, H : 5.86, N : 27.83

(分子量 515.60として)

計算値 : C : 72.21, H : 6.06, N : 10.87

実測値 : C : 72.69, H : 5.88, N : 10.92

(4) 9-[(1S,4R)-4-ヒドロキシメチルシクロヘキサン-1-イル]グアニン

上記(3)で得られた化合物を参考例4～8の方法に準じてヒポキサン環を開裂せしめ、再びグアニン環に閉環させることによって目的物を得ることができる。

#### 実施例6

経口用緩剤

2',3'-ジデオキシアリステロ

マイシン 200mg  
乳 酪 300mg  
デンブン 50mg  
ステアリン酸マグネシウム 2mg  
をメタノール中で混和し、加熱下メタノールを除去し、錠剤機によって成型する。

## 実施例 7

## 注射剤

2',3'-ジデオキシアリステロマイシン・塩酸塩 500mgを殺菌水10mlに溶解し、pHを水酸化ナトリウム水溶液を用いて6.0に調製し、殺菌フィルターでろ過し、バイアル瓶中に封入する。

## 試験例 1

## 材料と方法\*

\* アンチミクロバイアル・エージェンツ・ケモセラピー(Antimicrob. Agents Chemother)

30,933(1986)

細胞: HTLV-I 持続感染細胞株MT-4とHTLV-III 產生細胞株Molt-4 / HTLV-

変性効果は生細胞数の減少を測定することによって検討した。生細胞はトリパンブルー色素排除法によって計数した。

HTLV-III/LAV抗原発現の検討: ウィルス特異抗原をもったHTLV-III感染MT-4細胞は間接免疫蛍光法によって計数した。メタノール固定した細胞に、希釈した抗HTLV-III抗体陽性のヒト血清を加えて37℃で30分間反応させた。この標本をリン酸塩緩衝生理食塩水中で15分間洗った。その後、細胞にフルオレセインイソチオシアネットを結合した抗ヒト免疫グロブリンGウサギ免疫グロブリンG(Dakopatts A/S, Copenhagen, Denmark)を加えて37℃、30分間反応させ、再びリン酸塩緩衝生理食塩水で洗った。蛍光顕微鏡下で500個以上の細胞を計数し、免疫蛍光陽性細胞の比率を計算した。

この結果、本発明の化合物に明らかな抗HTLV-III/LAV活性が認められた。2',3'-ジデオキシアリステロマイシンを例にとると、その最低有効濃度は50~100μMであつ

た。この研究に使用した細胞は、10%のウシ胎児血清、100IU/mlのベニシリントンと100μg/mlのストレプトマイシンを添加した RPMI 1640培養液中、37℃でCO<sub>2</sub>インキュベーター内に維持した。

ウイルスとウイルス感染: HTLV-IIIはMolt-4 / HTLV-IIIの培養上清から得た(Virology 144, 272(1985))。このウイルス標品の力価は6×10<sup>4</sup>PFU/mlであった。HTLV-IIIのMT-4細胞への感染はa.o.i.(細胞1個当たりの感染ウイルス数)0.002で行なった。細胞をウイルス液と混合し、37℃で1時間培養した。ウイルス吸着後、感染細胞を洗浄し、新鮮な培養液中に3×10<sup>5</sup>個/mlの濃度に再び懸滴した。種々の濃度の検体の存在下、非存在下の両条件とも、この細胞濃度で37℃でCO<sub>2</sub>インキュベーター内に6日間培養した。

HTLV-III/LAVによって引き起こされた細胞変性効果の検討:

HTLV-III/LAVによって引き起こされた細

変性効果は生細胞数の減少を測定することによって検討した。一方、細胞毒性は500~1,000μMで観察された。

## 発明の効果

本発明の一般式[1]で示される化合物は、各種DNAウイルスたとえばヘルペスウイルスなどに対し生育抑制作用を有すると共に、逆転写酵素の阻害剤としてRNAウイルス、特にエイズウイルス(LAV/HTLV-IIIウイルス)に対して生育抑制作用を有するものである。また本化合物のヌクレオチドアナログは遺伝子クローニングにおいて有用な手段を提供するものである。すなわち、本発明の化合物はシクロペンタン環を有するアナログはプリン-2',3'-ジデオキシヌクレオチドのカルボサイクリックアナログであり、グリコシル結合を有しないため、合成が容易であり、そのトリリン酸誘導体はDNAの配列決定法におけるDNA鎖伸長反応の停止剤として使用されるものである。



手続補正書(自発)

昭和62年3月30日

特許庁長官殿



## 1. 事件の表示

昭和62年特許願第25074号

## 2. 発明の名称

ヌクレオシド類錠、その製造法および抗ウイルス剤

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 大阪市東区道修町2丁目27番地

名称 (293) 武田薬品工業株式会社

代表者 梅本純一正

## 4. 代理人

住所 大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号

武田薬品工業株式会社大阪工場内

氏名 弁理士 (8954) 岩田弘  
(山岩記)  
監査部

東京速達先(特許法規課)電話 278-2218・2219

## 5. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

本



補正する。

7) 同書第12頁第6行の「の好発症」を削除する。

8) 同書第25頁第7行の「実施例1」を「参考例6」に訂正する。

9) 同書第35頁最終行～第36頁第1行の「HTLV-III産生細胞株Molt-4/HTLV-III」を「HIV<sub>HTLV-III</sub> 産生細胞株Molt-4/HIV<sub>HTLV-III</sub>」に補正する。10) 同書第36頁第6行、第36頁第7行、第36頁第10行、第37頁第5行および第37頁第7行の「HTLV-III」を「HIV<sub>HTLV-III</sub>」にそれぞれ補正する。11) 同書第36頁第18行、第36頁最終行、第37頁第4行および第37頁第18行の「HTLV-III/LAV」を「HIV<sub>HTLV-III</sub>/LAV」にそれぞれ補正する。

12) 同書第38頁第7～8行の「エイズウイルス(LAV/HTLV-IIIウイルス)」を「AIDS

## 6. 補正の内容

1) 明細書第11頁第13行の「としては、」と「ヒト免疫不全ウイルス」との間に「後天性免疫不全症候群(Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS)の病原体である」を挿入する。

2) 同書第11頁第13～14行の「(ヒトT細胞リンパ癌性ウイルス、HTLV-III)」を「(Human Immunodeficiency Virus, HIV)」と補正する。

3) 同書第11頁第16行の「感染性」を「伝染性」に補正する。

4) 同書第11頁下から第2行の「特に」と「HTLV-III」との間に「HIVの一つである」を挿入する。

5) 同書第11頁最終行の「(AIDS)ウイルス」を「[ヒトT細胞リンパ癌性ウイルス(Human T-cell Lymphotropic Virus type III), HIV<sub>HTLV-III</sub>]」と補正する。6) 同書第12頁第4行の「発症」を「発生」に  
の病原体であるHIVに補正する。

以上